STA® - CEPHASCREEN®

Determinación del tiempo de tromboplastina parcial activada

STA® - CEPHASCREEN® ④

• Kit de 12 viales de 4 ml

(REF 00308)

STA® - CEPHASCREEN® ⑩

• Kit de 12 viales de 10 ml

(REF 00310) IVD CE

Febrero 2013 *Español 6*

1/ UTILIZACIÓN DEL KIT

Los kits **STA® - Cephascreen®** contienen reactivos para la determinación del tiempo parcial de tromboplastina activada (APTT) en el plasma, conforme a Langdell R.D. *et al.* (1) y a Larrieu M.J., Weilland C. (3) en los aparatos de la línea STA® compatibles con este reactivo.

2/ SUMARIO

- El tiempo parcial de tromboplastina activada es una prueba general de coagulación para detectar los factores de coagulación XII, XI, IX, VIII, X, V, II y fibrinógeno. La determinación de APTT es también útil para monitorear la terapia heparínica con heparina sin fraccionar (UFH).
- Se observa un APTT prolongado en las siguientes situaciones (7):
  - Deficiencias congénitas
    - ◊ Si el tiempo de protrombina (PT) es normal, pueden ser deficientes los siguientes factores:
      - factor VIII (STA® - Deficient VIII, REF 00725)
      - factor IX (STA® - Deficient IX, REF 00724)
      - factor XI (STA® - Deficient XI, REF 00723)
      - factor XII (STA® - ImmunoDef XII, REF 00315).
    - ◊ Si todos estos factores son normales, debe estudiarse una posible deficiencia en el quininógeno HMW (factor de Fitzgerald).
  - Deficiencias adquiridas y condiciones anormales
    - ◊ Enfermedades hepáticas
    - ◊ Coagulopatía de consumo
    - ◊ Fibrinólisis
    - ◊ Anticoagulantes circulantes (de tipo LA o anticoagulantes circulantes contra un factor)
    - ◊ Durante una terapia con heparina o con antagonistas de la vitamina K
    - ◊ Tratamientos con inhibidores de la trombina (ej., hirudina, argatroban, etc.).

3/ PRINCIPIO DEL TEST

El APTT implica la recalcificación de plasma en presencia de una cantidad estandarizada de cefalina (sustituto de las plaquetas) y de polifenol (activador del factor XII). El APTT explora los factores de coagulación XII, XI, IX, VIII, X, V, II y I, exceptuando las plaquetas.

4/ COMPOSICIÓN DEL KIT

Cada estuche de STA® - Cephascreen® contiene una hoja con código de barras. Este código de barras contiene las siguientes informaciones: número de lote, referencia del kit, referencia del reactivo, fecha de caducidad.

STA® - Cephascreen®: reactivo con cefalina (substituto de las plaquetas) extraída de tejido cerebral de conejo (2) y un activador (polifenólico) (patente concedida), viales de 4 ml (REF 00308) o de 10 ml (REF 00310).

Este reactivo contiene la mezcla 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona / 2- metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1). A la concentración a la que se presenta (< 0,06 %), esta mezcla se clasifica como irritante.
R43: Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.
S26: En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico.
S28: En caso de contacto con la piel, lávense inmediata y abundantemente con agua y jabón.
S36/37/39: Úsense indumentaria y guantes adecuados y protección para los ojos/la cara.

Este reactivo contiene productos de origen humano y/o animal. Cuando se ha utilizado plasma humano en la preparación de este reactivo, se excluye previamente la presencia del antígeno HBs, de los anticuerpos anti-HCV, anti-HIV 1 y anti-HIV 2 con los correspondientes análisis. Sin embargo, ningún test puede garantizar de manera absoluta la ausencia de agentes infecciosos. Por eso, este reactivo de origen biológico ha de ser manipulado con las precauciones habituales, ya que se trata de un producto potencialmente infecciosos.

5/ PRECAUCIONES

El estuche intacto se debe conservar a 2-8 °C. Sólo para uso diagnóstico *in vitro*. Estos reactivos sólo deben ser utilizados por personal autorizado del laboratorio.
Los estuches STA® - Cephascreen® están diseñados especialmente para los aparatos de la línea STA® que pueden utilizar este reactivo. Antes de cualquier utilización, leer con atención el "Manual del Operador" del instrumento utilizado.
Los residuos se eliminarán con arreglo a la reglamentación local vigente. Tener cuidado en el manejo de estos reactivos y las muestras.

6/ OBTENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

La obtención de la muestra debe ajustarse a las recomendaciones para las pruebas de hemostasia.

- **Obtención de la muestra**
  – En un tubo no humedecible con una solución de citrato trisódico 0,109 M: 1 vol. de citrato para 9 vol. de sangre,
  – o en tubo CTAD, que es un tubo especialmente indicado para prevenir la inactivación de la heparina (6).
- **Centrifugación**
  Centrifugación: 15 minutos a 2000-2500 g.
- **Conservación**
  El plasma se puede conservar durante 4 horas a 20 ± 5 °C (9).
  Si el paciente está sometido a terapia con heparina, los plasmas se pueden conservar durante 2 horas (citrato) o 4 horas (CTAD) a 20 ± 5 °C.

7/ PREPARACIÓN Y CONSERVACIÓN DEL REACTIVO

- **Preparación**
  Mantener el reactivo a temperatura ambiente (18-25 °C) durante 30 minutos antes de su uso. Agitar **muy vigorosamente** o con un agitador tipo Vortex (a velocidad máxima durante 3 a 5 segundos) para obtener una solución homogénea. Luego, añadir un STA® - Reducer nuevo (REF 00797 o 00801) y el tapón perforado. El reactivo se encuentra listo para el empleo.
- **Conservación**
  Conservados a 2-8 °C en su embalaje original, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el estuche.
  Una vez homogeneizado y abierto el reactivo, con el STA® - Reducer y la tapa perforada en su lugar, éste se mantiene estable durante:
  – 7 diás (REF 00308) o 10 diás (REF 00310) en STA-R® y STA Compact®
  – 8 diás (REF 00308) o 10 diás (REF 00310) en STA Satellite®.
  Non congelare.

8/ REACTIVOS Y MATERIALES AUXILIARES

- **STA® - $CaCl_2$ 0.025 M** (REF 00367).
- **STA® - Coag Control N + P** (REF 00679), **STA® - System Control N + P** (REF 00678) o **STA® - Routine QC 2 ml** (REF 00554): controles normal y anormal.
- STA-R®, STA Compact® o STA Satellite®.
- STA® - mini Reducer REF 00797 (STA® - Cephascreen® ④) o STA® - maxi Reducer REF 00801 (STA® - Cephascreen® ⑩).
- Equipamiento habitual en los laboratorios de análisis clínicos.

9/ PROCEDIMIENTO

Comparar el APTT del paciente con el control del APTT de referencia utilizado en el laboratorio. Cuando se utilice una mezcla de plasma humano normal (plasmas serológicamente ensayados), asegúrese de que los plasmas sean obtenidos de individuos sanos, ya sea hombre o mujer, con edades comprendidas entre 18 y 55, que no se encuentran tomando ningún medicamento y que su donación sea voluntaria.

9.1. Plasmas a analizar
Los plasmas a testar han de estar sin diluir. Introducirlos en el instrumento (ver el "Manual del Operador" del instrumento utilizado). Seleccionar el(los) test(s) a efectuar en los plasma de pacientes.

9.2. Controles
Los controles son necesarios para verificar la exactitud y la reproducibilidad de los resultados. Preparar estos reactivos de control y transferir la información contenida en el código de barras impreso en su respectivos inserts, al instrumento. Estos controles se utilizan han de estar sin diluir.

9.3. Dosificación
Para la realización de la dosificación, seguir los protocolos descritos en los "Standardized Operating Procedures" del instrumento.
La determinación del APTT en el plasma por valorar se procesa automáticamente por el analizador tan pronto se cargan las muestras.

10/ RESULTADOS

El tiempo de tromboplastina parcial activada de las muestras analizadas aparece en tiempo real, en la unidad seleccionada por el operador, en la pantalla del aparato (ver el "Manual del Operador"). El resultado debe interpretarse en función del estado clínico y biológico del paciente.

Si el aparato señala que los resultados obtenidos para los controles se sitúan fuera del intervalo de valores indicado en las hojas incluidas en el estuche, es preciso asegurarse del buen funcionamiento de todo el sistema: condiciones de ensayo, reactivos, plasmas en los que se efectúa el test, etc. Si es necesario, repetir las muestras.

11/ LIMITACIONES

- En general el STA® - Cephascreen® es insensible a las deficiencias precalicreínicas. Se ha mencionado en la literatura que los pacientes homocigotos con deficiencia precalicreínica no manifiestan ningún episodio hemorrágico particular (8).
- Cuando se realice un control de terapia con heparina, cualquier liberación de factor plaquetario 4 (PF4) el cual es un potente inhibidor de heparina, representa una importante fuente de error:
  – Recolecte la sangre en tubos plásticos, siliconizados, o CTAD,
  – Realice la centrifugación dentro de 1 hora después de la toma de muestras si la sangre fue recolectada en el anticoagulante convencionales (citrato) y dentro de 4 horas si la sangre fue recolectada con tubos CTAD.

12/ INTERVALO DE REFERENCIA

Los valores normales pueden variar de acuerdo a las condiciones locales (como tipos de población). Es necesario por lo tanto que cada laboratorio establezca sus propios rangos normales y los valores de control aceptables para su población local particular de pacientes. En general, los valores son considerados normales si se encuentran dentro del rango siguiente: media ± 2 desviaciones estándar ($\bar{X}$ ± 2 SD) (5).
Por ejemplo: se examinaron con el STA® - Cephascreen® 357 plasmas humanos normales utilizando el analizador STA®. El tiempo medio observado fue de 29,2 segundos, con una desviación estándar de 2,8 segundos.
Se observa un APTT estadísticamente prolongado en recién nacidos. En cambio, se observan tiempos más breves en la población de edad avanzada (4).

13/ CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Los resultados de los estudios de reproducibilidad intra e inter-series obtenidos en STA® están indicados en las tablas siguientes:

	Reproducibilidad intra-serie		Reproducibilidad inter-serie	
Muestra	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
n	21	21	10	10
$\bar{X}$ (s)	29,8	47,2	29,8	48,0
SD (s)	0,19	0,40	0,42	0,44
CV (%)	0,6	0,8	1,4	0,9

14/ VARIANTES

Los capítulos 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 11 precedentes, son también válidos para la determinación con el método semiautomático.

14.1. Preparación y conservación del reactivo
Mantener el reactivo a temperatura ambiente (18-25 °C) durante 30 minutos antes de su uso. Agitar **muy vigorosamente** o con un agitador tipo Vortex (a velocidad máxima durante 3 a 5 segundos) para obtener una solución homogénea (no añada ni STA® - Reducer, ni tapa de plástico perforada).
Una vez homogeneizado y abierto, el reactivo es estable 24 horas a 20 ± 5 °C y 14 diás a 2-8 °C, dejando tapado el vial luego de su uso.

14.2. Reactivos y materiales auxiliares
- **STA® - $CaCl_2$ 0.025 M** (REF 00367).
- **Coag Control N + P** (REF 00621) o **System Control N + P** (REF 00617): controles normal y anormal.
- Instrumento similar al ST art®.
- Equipamiento habitual en los laboratorios de análisis clínicos.

14.3. Plasmas a analizar y controles
Los plasmas a testar y los controles se utilizan han de estar sin diluir.

14.4. Dosificación
Comparar el APTT del paciente con el control del APTT de referencia utilizado en el laboratorio. Mantenga el reactivo STA® - Cephascreen® a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de su uso. Siga las instrucciones del fabricante para la determinación del APTT. Por ejemplo:

En una cubeta precalentada a 37 °C:	
• Diluya el plasma (de referencia, del paciente o de control) . . .	1 vol.
• STA® - Cephascreen®	1 vol.
• Incubar a 37 °C durante	4 mn
• Inicio de un cronómetro, añadir el STA® - $CaCl_2$ 0.025 M precalentado a 37 ° C	1 vol.
Anotar el tiempo de coagulación (segundos).	

14.5. Resultados
Tenga en cuenta el tiempo de coagulación (segundos) del plasma paciente y el del plasma normal de referencia. El resultado debe interpretarse en función del estado clínico y biológico del paciente.
Comprobar que los resultados obtenidos para los controles se sitúan en los intervalos indicados en la hoja incluida en el kit. Si el aparato señala que los resultados obtenidos para los controles se sitúan fuera del intervalo de valores indicado en la hoja incluida en el estuche, es preciso asegurarse del buen funcionamiento de todo el sistema: condiciones de ensayo, reactivos, plasmas en los que se efectúa el test, etc. Si es necesario, repetir las muestras.

14.6. Intervalo de referencia
Por ejemplo, se analizaron 30 plasmas humanos normales con el instrumento ST art®. El tiempo medio observado fue de 28,7 segundos con una desviación estándar de 2,5 segundos.

14.7. Características del método
Los resultados de los estudios de reproducibilidad intra e inter-series obtenidos en ST art® están indicados en las tablas siguientes:

	Reproducibilidad intra-serie		Reproducibilidad inter-serie	
Muestra	Muestra a	Muestra b	Muestra c	Muestra d
n	24	24	10	10
$\bar{X}$ (s)	29,8	50,5	30,8	49,9
DS (s)	0,26	0,50	0,45	0,59
CV (%)	0,9	1,0	1,4	1,2

BIBLIOGRAFÍA

1. LANGDELL R.D., WAGNER R.H., BRINKHOUS K.M.: "Effect of antihemophilic factor on one-stage clotting tests". J. Lab. Clin. Med., **41**, 637-647, 1953.
2. BELL W.N., ALTON H.G.: "A brain extract as a substitute for platelet suspensions in the thromboplastin generation test". Nature, **174**, 880-881, 1954.
3. LARRIEU M.J., WEILLAND C.: "Utilisation de la "céphaline" dans les tests de coagulation". Nouv. Rev. Fr. Hématol., **12**, 2, 199-210, 1957.
4. CAWKWELL R.D.: "Patient's age and the activated partial thromboplastin time test". Thromb. Haemostasis, **39**, 780-781, 1978.
5. LEVIN HILLMAN C.R., LUSHER J.M.: "Determining the sensitivity of coagulation screening reagents: a simplified method". Lab. Med., **13**, 3, 162-165, 1982.
6. CONTANT G., GOUAULT-HEILMANN M., MARTINOLI J.L.: "Heparin inactivation during blood storage: its prevention by blood collection in citric acid, theophylline, adenosine, dipyridamole - C.T.A.D. mixture". Thromb. Res., **31**, 365-374, 1983.
7. SAMAMA M., CONARD J., HORELLOU M.H., LECOMPTE T.: "Physiologie et exploration de l'hémostase". Paris: Doin, 152-153, 1990.
8. BORG J.Y.: "Déficits constitutionnels en facteur de la coagulation en dehors de l'hémophilie" in "Manuel d'hémostase", J. Sampol, D. Arnoux, B. Boutière, Paris: Elsevier, 359-377, 1995.
9. "Etude des différents paramètres intervenant dans les variables préanalytiques (revue de la littérature)". Sang Thromb. Vaiss., **10**, 5-18, 1998.

Los cambios significativos son indicados por las líneas punteadas en el margen.

DIAGNOSTICA STAGO S.A.
9 rue des Frères Chausson
92600 Asnières sur Seine (France)
+33 (0)1 46 88 20 20
webmaster@stago.com

Las informaciones y/o las imágenes contenidas en este documento están protegidas por copyright y otros derechos de propiedad intelectual, © 2013, Diagnostica Stago, todos derechos reservados. Los logotipos y/o los nombres de los productos de Diagnostica Stago son marcas registradas.